

論文内容の要旨

論文提出者氏名 鈴木 千 夏

論文題目

Non-receptor type, proline-rich protein tyrosine kinase 2 (Pyk2) is a possible therapeutic target for Kawasaki disease

論文内容の要旨

川崎病は乳幼児期に好発する原因不明の全身性汎血管炎で、後遺症としてしばしば冠動脈障害を伴う。未だその病因および発症機序は不明であるが、免疫グロブリン大量療法 (IVIG) が標準的治療法として確立され、急性期死亡率は著減した。しかし症例全体の約 20% は IVIG に抵抗性を示し、冠動脈後遺症のリスク増大につながるものが強く懸念されている。ゆえにその発症機序解明はもちろん IVIG に代わる新規治療法の確立は小児科領域における喫緊の課題である。

非受容体型 Proline-rich protein tyrosine kinase 2 (Pyk2) は、主に造血細胞や脳、骨細胞に発現し、B 細胞の分化や細胞運動など様々な細胞機能に関与するほか、近年、炎症あるいは血管病態との関係も報告されている。よって、Pyk2-knockout (KO) マウスを用いて川崎病血管炎における Pyk2 の関与を明らかにすべく、本研究を実施した。

大野らの方法に準じ、*Candida albicans* water-soluble fraction (CAWS) を Pyk2-KO マウスおよび正常マウスに投与し川崎病様血管炎を誘導した。その結果、正常マウスでは冠動脈分岐部を含む大動脈起始部に著明な血管炎を発症したが、Pyk2-KO マウスでは血管炎を発症せず、本モデルマウスにおける血管炎の発症に Pyk2 が必須であることが示唆された。

川崎病では 30 種類をこえるサイトカイン/ケモカインの産生亢進が報告されている。そこで Pyk2 が関与するサイトカイン/ケモカイン産生の網羅的解析を行った。その結果、Pyk2-KO マウスと正常マウスの間で、CAWS 刺激後の MIG/CXCL9 および IP-10/CXCL10 産生動態に差異を認めた。さらに CAWS 投与から血管炎極期にいたる過程でのこれらのケモカインの血中濃度の経時変化を解析し、以下の事が判明した。すなわち、Pyk2-KO マウスでは MIG/CXCL9、IP-10/CXCL10 とも CAWS 投与に伴い初期より有意に増加し、その後も観察過程を通して対照群に対して高値を維持していた。一方、正常マウスでは CAWS の投与直後は両者ともに一過的な増加を示すものの、その後は血管炎の発症、進展に合わせて対照群のレベルまで急速に低下した。

炎症誘発性ケモカインである MIG/CXCL9 および IP-10/CXCL10 は同時に、強力な血管新生抑制作用を有する。これまでに申請者らのグループは、本研究で使用したのと同じ

CAWS 誘発川崎病マウスモデルにおいて、血管炎初期に、炎症好発部位である冠動脈分岐部を含む大動脈起始部で *vasa vasorum* 等の微小血管の増生がみられることを報告している。しかし、Pyk2-KO マウスでは CAWS 刺激によっても正常マウスにみられるような微小血管の増生は認められなかった。これら結果から、Pyk2-KO マウスではこれら血管新生抑制性ケモカインの産生亢進により、好中球等の炎症性細胞の侵入路となるべき微小血管の新生が抑制された結果、血管炎が誘導されなかったものと考えられる。

次に、CAWS 刺激に対する、MIG/CXCL9 や IP-10/CXCL10 の産生制御にかかわる事が知られている STAT1 および STAT3 の活性化について各マウスの骨髓細胞由来マクロファージを用いて検討した。CAWS 刺激は Pyk2 を活性化した。STAT1 については、両マウスのマクロファージともに CAWS 刺激による活性化は認められなかった。一方、STAT3 は正常マウスのマクロファージにおいて、CAWS 刺激により活性化したが Pyk2-KO マウス由来の細胞ではこのような変化は見られなかった。STAT3 は Pyk2 の下流にあり、これらのケモカインの遺伝子発現を負に調節する転写因子として知られている。ゆえに Pyk2-KO マウスではこれらのケモカインの発現に対する抑制性制御が低下し、結果としてこれらのケモカインの持続的な産生亢進が起きた可能性が考えられる。

本研究の結果は、川崎病血管炎の発症機序に Pyk2 依存的シグナル伝達経路が関与することを示唆する。同分子は、川崎病治療における新規の分子標的となりうることが期待される。